

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06816

研究課題名（和文）比較ゲノム解析によるシロアリの社会性進化に伴うゲノム変異の同定

研究課題名（英文）Identification of genomic changes associated with social evolution of termites by comparative genomic analysis

研究代表者

林 良信（HAYASHI, Yoshinobu）

慶應義塾大学・法学部（日吉）・講師

研究者番号：70626803

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：単独性から真社会性への進化は、生物界において社会という新たな階層性を生じさせた生物進化史上の革新的な出来事の一つであり、特に注目すべき生物学的現象である。本研究では亜社会性のキゴキブリと真社会性のシロアリの進化過程においてどのような遺伝子に自然選択が働いたか調べた。その結果、親子関係の構築において重要と考えられる遺伝子や飛翔能力に関わる遺伝子において正の自然選択が検出された。今後は、それらの進化過程で生じたゲノム上の変化をさらに網羅的に解明していく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は真社会性の進化に着目し、その過程における自然選択の影響について研究したものである。真社会性進化については、「なぜ進化したのか」という究極要因の研究が中心的であったが、本研究では「どのように進化してきたのか」という系統発生要因を明らかにした。今後さらにシロアリ特異的遺伝子や遺伝子発現調節領域の研究を進めることで、生物進化史上の大イベントである「真社会性への進化」がどのように実現されたのかを解明することができる。

研究成果の概要（英文）：The evolution from solitary to eusociality is one of the major transitions in the history of biological evolution, giving rise to a new hierarchy of society, and is a particularly noteworthy phenomenon in biology. In this study, we examined natural selection on genes during the evolution of sub-social cockroaches and eusocial termites. As a result, positive selection was detected in genes considered important in the establishment of parent-offspring relationships and in genes related to flight ability. In the future, it will be of utmost importance to comprehensively elucidate the genomic changes that have occurred during the evolutionary process of these genes.

研究分野：昆虫社会学、進化ゲノム学

キーワード：真社会性 亜社会性 遺伝子 自然選択

## 1. 研究開始当初の背景

「単独性生物から真社会性生物への進化」は、「単細胞生物から多細胞生物への進化」と並び、生物界にあらたな複雑性を生じさせた生物進化史上の革新的な出来事の一つである。真社会性生物においては、単独性生物では決してみることでできない特異な性質が数多く進化している(たとえば、真社会性昆虫の不妊個体の存在や高度な個体間コミュニケーション)。一方で、「社会性進化」は決して稀な現象ではなく、哺乳類や昆虫など非常に様々な分類群の生物で普遍的にみられる。この特異性と普遍性ゆえに、真社会性進化は生物学において特に注目すべき重要な現象と言える。

ミツバチやアリ、シロアリなどの真社会性昆虫は古くから注目されてきた。その理由の一つには、一部の真社会性昆虫の労働カーストが自身の繁殖の機会を完全に放棄(不妊化)してまで巣仲間の繁殖を助けるという極端な利他性を示すことが挙げられる。チャールズ・ダーウィンは著書「種の起源」の中で、不妊化という性質をもつ社会性昆虫の存在は、自身の子をより多く残す性質が進化するという自然選択理論にとって致命的なものであると述べている。それ以降の長年の間、社会性昆虫の「利他性がなぜ進化し維持されているのか」という究極要因(適応進化要因)に関する問いは、進化生物学における最大の謎の一つとなっていた。しかし、1964年に W. D. Hamilton は、血縁選択説(利他行動をする個体は血縁のある繁殖個体を介して間接的に自身の遺伝子を残すことができるため、利他性は進化しうるとする説)によって、その適応進化要因に対する一つの回答を与えた。それ以降、社会性昆虫では血縁選択説の検証がさかんに行われ、アリやミツバチ、そしてシロアリにおいても血縁選択を支持する結果が得られるなど、昆虫の社会性の進化・維持の適応進化要因に対する理解は非常に深まった。

社会性進化という現象を包括的に理解するためには適応進化要因のみならず、「生物の形質や遺伝子がどのような過程を経て進化してきたのか」という系統進化要因の解明も不可欠であり、現時点での特に重要な課題となっている。系統進化要因の解明においては、ゲノム配列の種間比較や遺伝子機能解析のための分子生物学的解析が重要となる。かつては非モデル生物でそのような解析を行うことは困難であったが、近年では次世代シーケンサー解析や RNA 干渉法など、非モデル生物でもそれらの研究を可能にするような実験・解析技術が飛躍的に進歩している。そのため現在では、シロアリのような非モデル生物においても、ゲノム解析や遺伝子機能解析による系統進化要因に関する課題にチャレンジできる状況になっている。

## 2. 研究の目的

社会性進化の研究においてシロアリは特に重要な存在である。シロアリは真社会性昆虫(繁殖に関する分業、複数世代の共存、複数個体による子の保護の3条件を満たす昆虫)であり、種によっては数百万個体にもものぼる巨大な社会を形成する。その社会では繁殖に専念する個体(繁殖カースト)や繁殖以外の労働をこなす個体(労働カースト)などのカースト間で利他行動を伴う協調的な分業が行われており、非常に複雑で強い個体間相互作用がみられる。このように社会性生物の中でも特に複雑なシロアリの社会がなぜ・どのように進化したのかを解明することは、社会性進化の理解に大きく貢献する。また、シロアリは、アリやミツバチ(ハチ目)とは独立に真社会性を獲得しており、シロアリ・ゴキブリ類で社会性進化の理解を深めてハチ目との比較をすることにより、昆虫の社会性進化の多様性・共通性の理解にも貢献する。

そこで本研究では、全ゲノム比較解析によってシロアリ・ゴキブリ類において亜社会性・真社会性の進化に伴い大きく改変されたゲノム領域を特定する。さらにそれらのゲノム領域の機能解析を行い、とくに社会の構築に強く関連するゲノム領域を特定する。本研究では、これらの全ゲノム解析によってシロアリ・ゴキブリ類の社会性の系統進化要因を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

シロアリ・ゴキブリ類の亜社会性・真社会性の進化過程においてどのようなゲノムの進化があったのかを明らかにするために、本研究では3種のゴキブリ[チャバネゴキブリ(単独性)、ワモンゴキブリ(単独性)、キゴキブリ(亜社会性)]と5種のシロアリ[ヤマトシロアリ、ネバダオオシロアリ、ダイコクシロアリ属の一種、イエシロアリ、ナタールオオキノコシロアリ(いずれも真社会性)]、またその他の昆虫の全ゲノムデータを用いた比較ゲノム解析を行った。

キゴキブリは亜社会性でシロアリの系統的姉妹群であり、真社会性に関する進化的解析において不可欠であるが、ゲノム解読が行われていなかった。そこでまず、PacBio ロングリードシーケンサーを用いて、キゴキブリの全ゲノム解読を行った。次に、シロアリ類の社会システムの進化において遺伝子重複が関与したのかを調べた。ここではネバダオオシロアリ、ヤマトシロアリ、ナタールオオキノコシロアリの3種を用いて遺伝子コピー数の進化過程を明らかにした。ヤマトシロアリにおいては、カースト特異的に発現する遺伝子の特定を行った。次にゴキブリ3種とシロアリ5種における相同遺伝子を OrthoMCL に改良を加えた方法により決定し、それらの

相同遺伝子において「単独性から亜社会性」または「亜社会性から真社会性」への進化過程において正の自然選択が生じたかを調べた。遺伝子機能の推定は既知遺伝子のアミノ酸配列の類似性検索によって行った。

前述の7種について、まず、ゲノム上のタンパク質コード遺伝子領域が同定されていない種について、funannotate プログラムを用いてその同定を行った。

その後、OrthoMCL プログラム(Li et al 2003)に改良を加えた方法で、7種の相同遺伝子の決定を行った。次に、全ての相同遺伝子グループについて遺伝子 GeneRax プログラムにより遺伝子系統樹を作成した。この解析によってすべての種においてシングルコピーである相同遺伝子グループを同定し、それらについて Yang (2006)の方法によって系統樹の枝ごとのアミノ酸の同義置換率と非同義置換率の解析をし、亜社会性・真社会性の進化過程で急速に非同義置換が生じた(正の自然選択圧がかかった)遺伝子を特定した。その遺伝子については、アミノ酸配列の相同性検索により遺伝子機能の推定をした。また同様に、複数の遺伝子コピーが存在する相同遺伝子グループについても正の自然選択が生じたものを同定し、遺伝子機能の推定を行った。

#### 4. 研究成果

ロングリードシーケンサーによるキゴキブリのゲノム塩基配列決定の結果、キゴキブリの推定ゲノムサイズである約 1.29 Gb の約 93%の領域を解読することに成功した。キゴキブリのゲノムアセンブリは、N50 値は 3.15 Mb を示し、ゴキブリ・シロアリの既存のゲノムアセンブリの中で最も高品質なものであると考えられる。funannotate プログラム (Palmer 2017) を用いたゲノムアノテーションの結果、キゴキブリでは 15680 のタンパク質コード遺伝子の遺伝子モデルが作成された。ワモンゴキブリでは、ゲノムアセンブリは作成されているがゲノムアノテーションが行われていなかったため、funannotate により遺伝子予測を行い、17595 のタンパク質コード遺伝子の遺伝子モデルが作成された。

シロアリ3種(ネバダオオシロアリ、ヤマトシロアリ、ナタールオオキノコシロアリ)とその他の昆虫のタンパク質コード遺伝子について、遺伝子コピー数の進化過程を調べた結果、ヤマトシロアリで遺伝子重複が高頻度に生じてコピー数が顕著に多い遺伝子群を特定することができた。加えて、遺伝子発現解析により、ヤマトシロアリにおいてカースト特異的に発現する遺伝子を特定した。それらの遺伝子は、カースト分業の維持に関わると推定され、社会性関連遺伝子とすることができる。これらの結果を総合して解析することによって、さらに、社会性関連遺伝子の遺伝子重複過程を調べた。その結果、社会性関連遺伝子はそれ以外の遺伝子と比べて、遺伝子重複を起こしている割合が有意に多いことが分かった。特に、個体間化学コミュニケーション(リポカリンなど)や社会免疫(リゾチウムや抗微生物ペプチド)、社会的防御(ゲラニルゲラニルニリン酸合成酵素)など、シロアリの社会組織化において重要な機能に関わる遺伝子群において、顕著な遺伝子重複がみられた。これらの結果は、シロアリの社会進化において遺伝子重複が重要な役割を果たしていると考えられる。一方で、ゲノム DNA の CpG メチル化はカースト間で違いがなく、社会性に関わる遺伝子発現調節機構としては大きな役割を果たしていないことが示唆される。

次に、ゴキブリ3種・シロアリ5種の遺伝子モデルを使用し、キゴキブリまたはシロアリ類の進化過程、つまり「単独性から亜社会性」または「亜社会性から真社会性」への進化過程において正の自然選択が生じた遺伝子の同定を試みた。OrthoMCL による相同遺伝子決定と GeneRax による遺伝子重複・欠失過程の推定により、すべての種において遺伝子コピー数が1である相同遺伝子グループ(シングルコピー遺伝子)が2814グループ検出された。これらのグループについて PAML ソフトウェアによる自然選択解析を行った結果、それぞれキゴキブリとシロアリ類の進化過程で、それぞれ78遺伝子または5遺伝子が正の自然選択が検出された。前者の遺伝子の中には、ネバダオオシロアリにおいてワーカーからソルジャーへの分化に関わると示唆されている Nlaz 遺伝子が含まれていた。この遺伝子はシロアリでは女王と子のコミュニケーションに関する機能を有すると推測されており、キゴキブリの親と子の相互作用の構築においても重要である可能性がある。また、飛翔筋形成に関わる遺伝子もキゴキブリへの進化過程で正の自然選択が生じていた。キゴキブリは木材の孔に生息しており、飛翔の必要はなく、成虫でも無翅で飛翔能力を失っている。キゴキブリへの進化過程においては、生息場所を飛翔の必要のない場所へ移し、飛翔能力を失う方向へ選択がかかったのかもしれない。そして、難消化性の木材を食物とすることで、消化能力の低い若虫への給餌の必要性が生じ、親子関係が発達していったのかもしれない。シロアリの進化過程で正の自然選択が生じた遺伝子後者の5遺伝子の中には、初期発生において頭尾軸を決定する遺伝子が含まれていた。初期発生に関わる遺伝子であっても、初期発生期以外のタイミングでも機能する遺伝子も多く知られており、この遺伝子がシロアリの社会性の形成においてどのような役割を果たしているのかは現時点では不明である。本研究ではシングルコピー遺伝子のみならず、複数のコピーが存在するマルチコピー遺伝子についても自然選択の検出を行った。8種のすべてで複数コピーとなっている遺伝子群は8グループあり、これらのうち4グループで正の自然選択が検出された。以上の解析で正の自然選択が検出された遺伝子については社会性とどのように関連するか不明であり、今後はこれらの遺伝子の機能解析を行うことで、亜社会性や真社会性の進化機構の解明を目指す。また、自然選択を受けた遺伝子は

特にシロアリへの進化過程では少なかったため、その進化においてはタンパク質コード領域の進化だけでなく、発現調節領域などその他のゲノム領域の進化も大きく貢献した可能性が示唆される。今後は調節領域についても詳細な解析を行い、社会性進化とゲノム進化との関連を網羅的に解明していく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Maekawa Kiyoto, Hayashi Yoshinobu, Lo Nathan	4. 巻 50
2. 論文標題 Termite sociogenomics: evolution and regulation of caste-specific expressed genes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Current Opinion in Insect Science	6. 最初と最後の頁 100880
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cois.2022.100880	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Shigenobu Shuji, Hayashi Yoshinobu et al.	4. 巻 119
2. 論文標題 Genomic and transcriptomic analyses of the subterranean termite Reticulitermes speratus: Gene duplication facilitates social evolution	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2110361119
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2110361119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究分担者	宮崎 智史  (Miyazaki Satoshi)  (20547781)	玉川大学・農学部・教授   (32639)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------

オーストラリア	The University of Sydney			
---------	--------------------------	--	--	--